Arnaldoa 22 (1): 105 - 118, 2015 ISSN: 1815-8242

Cuantificación de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner (Solanaceae) y su actividad antimicrobiana

Quantification of total steroidal glycoalkaloids of the leaves of *Solanum habrochaites* S. Knapp & D.M. Spooner (Solanaceae) and its antimicrobial activity



Marilú Roxana Soto Vásquez
Laboratorio de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n. Trujillo-Perú msoto@unitru.edu.pe
Karina Soto Vásquez
Área de Microbiología. Hospital Belén de Trujillo. Jr. Bolívar Nº 350. Trujillo. Perú. karinasotovasquez@gmail.com

Resumen

El presente trabajo de investigación estuvo orientado a determinar la concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner (Solanaceaea) y evaluar su actividad antimicrobiana. La especie en estudio fue recolectada del Cerro Campana, distrito de Huanchaco, región La Libertad-Perú. Se realizó la cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina mediante el método descrito por Peña. La identificación cualitativa de los glicoalcaloides esteroidales totales se llevó a cabo mediante reactivos de coloración. Para realizar el ensayo antimicrobiano se empleó el método de difusión en discos según Kirby-Bauer y se determinó la concentración mínima inhibitoria mediante método de macro dilución en agar. La concentración de glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina fue de 1,1212 ±0,0046 g por 100 g de hojas secas. Asimismo, estos compuestos mostraron actividad antimicrobiana frente *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* a todas las concentraciones ensayadas (1; 2,5 y 5 mg/mL.), siendo más efectivos contra *Candida albicans* cuyas medidas de halos de inhibición superaron al fluconazol 25 µg. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) fueron de 50, 25 y 10 µg/mL para *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Candida albicans* respectivamente.

Palabras clave: Glicoalcaloides esteroidales, *Solanum habrochaites,* antimicrobiano

Abstract

This research was aimed to determine the total concentration of steroidal glycoalkaloids of the leaves of *Solanum habrochaites* S. Knapp & D.M. Spooner (Solanaceaea) and evaluate their antimicrobial activity. The specie studied was collected from the Cerro Campana, district Huanchaco, La Libertad, Peru. Spectrophotometric quantification of total steroidal glycoalkaloids expressed as solanine was performed by the method described by Peña. Qualitative identification of total steroidal glycoalkaloids was performed by staining reagents. For the antimicrobial assay the disc diffusion method according to Kirby-Bauer was used and the minimum inhibitory concentration was determined by the method of agar macrodilution. The concentration of total steroidal glycoalkaloids expressed as solanine was 1.1212 ± 0.0046 g per 100 g of dry leaves. These compounds showed antimicrobial activity against *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* at all concentrations tested (1, 2.5 and 5 mg mL), being most effective against *Candida albicans* which measures of inhibition halos that exceeded fluconazole 25 µg. The MICs were 50, 25 and 10 ug/mL for *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Candida albicans* respectively.

Keywords: Steroidal glycoalkaloids, *Solanum habrochaites*, antimicrobial

Introducción

Los alcaloides constituyen una de las clases más extensas de productos naturales, sintetizados de casi todos los phylum de organismos terrestres y marinos, y en especial de las plantas (Fattorusso & Taglialatela-Scafati, 2008). De entre sus tipos se encuentra los denominados glicoalcaloides esteroidales, que son alquilaminas esteroidales con el esqueleto C_{27} del colestano que se encuentran en la planta en forma de glicósidos (Ejm. α-solanina y α-chaconina) (Olortegui & Brañez, 2009).

Estos, según Friedman (2006) son ésteres que resultan de la unión entre el aglicón (porción no carbohidratada, que es un alcaloide esteroidal) y una parte carbohidratada, mediante un enlace éster, y se pueden distinguir dos tipos de estructuras: espirosolanas (como la tomatidina) y solanidinas (como la de los glicoalcaloides).

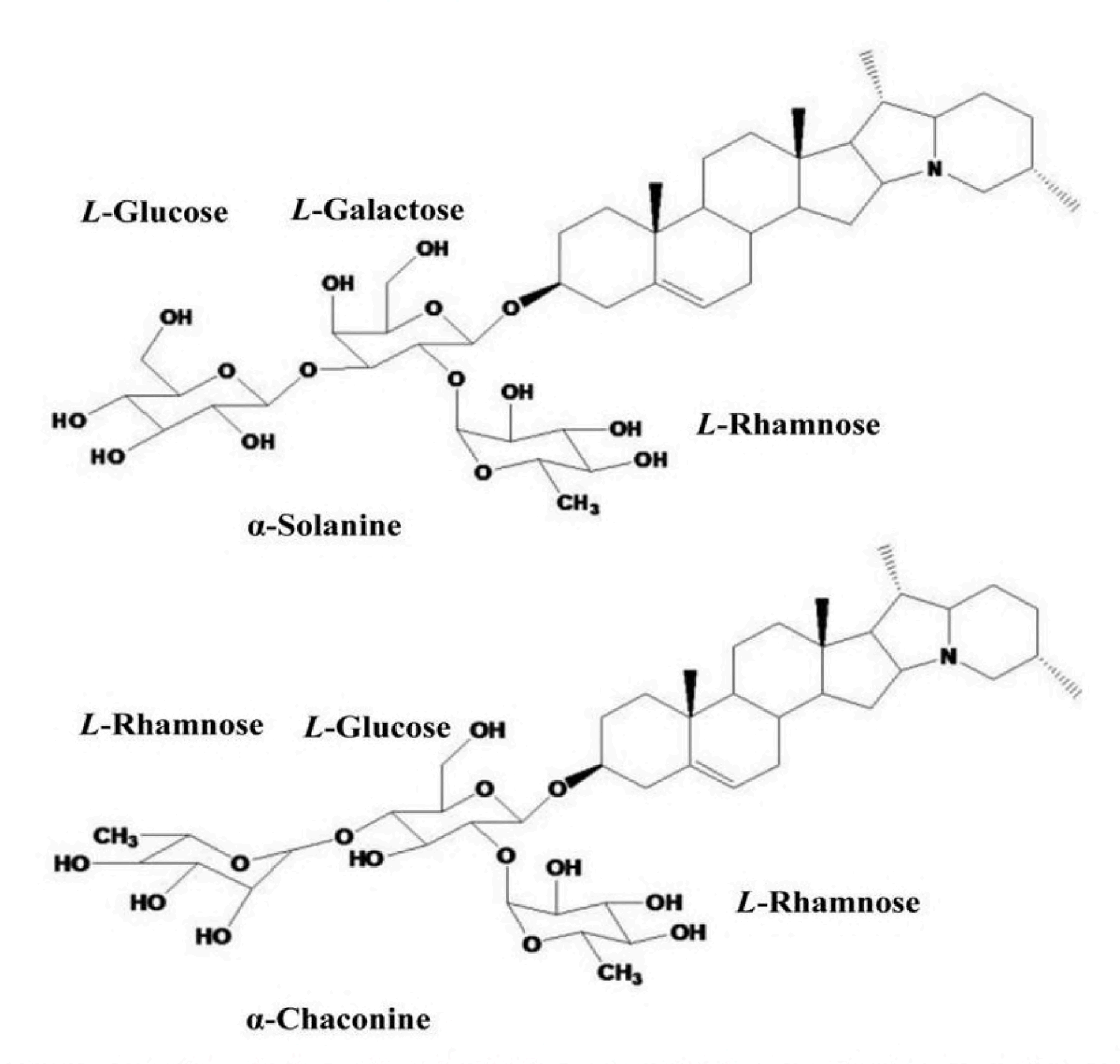


Fig. 1. Estructura química de los glicoalcaloides esteroidales α-solanina y α-chaconina. Fuente: Wang *et al.* (2013)

Según Tingey (1984), estos compuestos sirven como mecanismo de defensa de la planta contra el ataque de insectos y hasta de microorganismos. Estos metabolitos poseen una diversa gama de actividades biológicas, entre las que destacan actividad antiparasitaria contra *Tripanosoma cruzi* (Hall *et al.*, 2006), efectos inhibitorio en el desarrollo de células cancerígenas de la piel humana (Cham & Maeres, 1987), hígado (Kuo *et al.,* 2000), próstata y colon (Yang *et al.*, 2006); además, de propiedades hipoglucemiantes, antivirales en especial contra el Herpes virus y el VIH (Korpan *et al.*, 2004), propiedades anticonvulsivantes, analgésicas (Pandurangan *et al.*, 2010; Soto, 2014) , antipiréticas (Mwonjoria *et al.,* 2011) y también sirven de base para la síntesis de hormonas esteroidales (Vronen, 2003).

Los glicoalcaloides esteroidales son producidos por las plantas de la familia Solanaceae, una de las más importantes en el reino vegetal, la cual comprende cerca de 2000 especies, distribuidas en 95 géneros, de los cuales *Solanum* es el taxón más representativo con aproximadamente 1500 especies (Weese & Bohs 2007), que se encuentran en los trópicos, subtrópicos y en las regiones templadas de ambos hemisferios, hallándose la más alta concentración de especies en los Andes y en el sureste de Brasil (Knapp, 2002).

De estas especies, *S. habrocahites* S. Knapp & D. M. Spooner es un arbusto decumbente o enredadera perenne de hasta 6 m de longitud. Presentan simpodios de tres hojas imparipinadas, de 7 a 30 cm de longitud con 3 a 5 pares de foliolos y varios foliolillos con márgenes aserrados. Presenta inflorescencias de 10 a 30 cm de longitud con 20 a 30 flores hermafroditas, actinomorfas, pentámeras, muy vistosas y de color amarillo intenso. Los frutos, de 1 a 1,5 cm de diámetro, son globosos,

biloculares y de color verde pálido a intenso ya sean densa o escasamente pubescentes (Hermida & Sifres, 2011).

Esta especie que se distribuye desde el sur del Ecuador hasta el centro sur del Perú, ha sido empleada en la mejora genética del "tomate", debido a que presenta resistencia a gran cantidad plagas (Leite *et al.*, 2001), enfermedades causadas por hongos (Foolad *et al.*, 2008); así como, tolerancia al frío y a las heladas (Paterson *et al.*, 1987). Tradicionalmente es usada en el tratamiento de enfermedades de la piel, el mal de altura, y los problemas gastrointestinales (Grandillo *et al.*, 2011).

En este sentido, la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos con diversas propiedades terapéuticas demanda la investigación de nuevas fuentes naturales para la obtención de nuevos fármacos. Es así, que se decidió realizar la presente investigación, teniendo como objetivos determinar la concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *S. habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner y evaluar la actividad antimicrobiana

Material y métodos

Material vegetal

Las hojas de la especie *S. habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner fueron recolectadas de las lomas costeras del Cerro Campana en el área comprendida entre las coordenadas geográficas de 7°59´06.41´´ latitud sur y 79°0.6´15.99´´ longitud oeste a una altitud de 700 m.s.n.m., del distrito de Huanchaco, provincia de Trujillo, región La Libertad-Perú. La especie vegetal fue identificada por el biólogo botánico Eric Frank Rodríguez Rodríguez, a quien le expresamos nuestro agradecimiento, y un ejemplar de la planta fue depositado en el Herbarium Truxillense (HUT), de la Universidad Nacional de Trujillo con número de depósito 50982.

Extracción y cuantificación de glicoalcaloides esteroidales

Para la extracción y cuantificación de glicoalcaloides esteroidales totales se utilizó la metodología descrita por Peña (2011), con algunas modificaciones.

Extracción:

Se pesaron 5 g de muestra seca y tamizada, la cual se hidrató con 20 mL de agua destilada durante una hora. Luego se preparó 210 mL de la mezcla extractora Etanol:Cloroformo (2:1 v/v), y se adicionó 100 mL de esta a la muestra hidratada, agitándose durante 30 minutos a baja velocidad. Posteriormente, se filtró la mezcla en un embudo de Buchner al vacío utilizando papel de filtro Whatman N°40, extrayéndose nuevamente el residuo con 210 mL de mezcla extractora por tres veces. En cada filtrada se lavó el agitador y los filtros con la mezcla Etanol/Cloroformo restante. La solución filtrada se llevó a un rotavapor marca Laborota 4003 a 60°C y 500 mm Hg de presión concentrándose hasta alcanzar un volumen de aproximadamente 20 mL. Paso seguido, la solución acuosa se transfirió a una pera de decantación donde se agregó 20 mL de solución de ácido acético (agua: ac. acético glacial, 98:2, v/v) y 15 mL de éter de petróleo, fracción 40-60, se agitó vigorosamente y se lavó varias veces con éter de petróleo hasta que no evidenciar la coloración verde característica de la clorofila. A continuación, se separó y se filtró la fase acuosa con papel de filtro Whatman N° 40, la cual se transfirió a una fiola de 50 mL y se enrazó con la mezcla de agua - ácido acético (98:2 v/v). Esta solución se colocó en frasco de vidrio de color ámbar y se

almacenó en refrigeración (soporta hasta 15 días sin variación). Del extracto se tomó una alícuota de 5 mL y se colocó en un erlemeyer de 50 mL donde se le adicionó gota a gota hidróxido de amonio concentrado hasta un pH de 9, colocándose luego el erlenmeyer en baño María marca Memmert a 85°C por 10 minutos y se enfrió a 5°C por 30 minutos, donde los glicoalcaloides son floculados. Finalmente, se centrifugó el contenido del erlenmeyer a 15000 rpm por 40 minutos, y luego se descartó el sobrenadante, se secó el precipitado y se guardó en un frasco de color ámbar bajo refrigeración.

Identificación

Se realizó la identificación cualitativa de los glicoalcaloides esteroidales totales haciendo uso de los reactivos de Dragendorff, Wagner, Mayer y Lieberman Burchard (Olórtegui & Brañez, 2009).

Cuantificación espectrofotométrica de glicoalcaloides esteroidales totales (GAET), expresados como solanina.

Preparación de la curva estándar

Se disolvió 2 mg de solanina pura en 2 ml de ácido ortofosfórico (puro). A partir de esta solución stock se preparó las siguientes concentraciones: 20, 40, 60, 80 y 100 ppm con el mismo ácido ortofosfórico.

Posteriormente, se realizó la lectura de las absorbancias a 408 nm en el Espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452 A. (Peña, 2011).

Preparación de la muestra

El precipitado obtenido de los glicoalcaloides esteroidales totales fue disuelto con 5 mL de ácido ortofosfórico, se agitó fuertemente y se llevó a leer en el espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452 A. a una longitud de onda de 408 nm.

Preparación del blanco

Se utilizó como blanco, el ácido ortofosfórico, que sirvió para calibrar el equipo del espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452 A.

Ensayo antimicrobiano *in vitro*

Se realizó empleando el método de difusión en discos según Kirby-Bauer (Sacsaquispe & Velásquez, 2002).

Microorganismos

Se trabajaron con tres cepas microbianas tipificadas, bacteria Gram negativa *E. coli* ATCC 25922, bacteria Gram positiva *S. aureus* ATCC 25923 y levadura *C. albicans* ATCC 10231 marca DIBICO, las cuales fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital de Belén.

Preparación de la muestra

Se prepararon tres concentraciones de glicoalcaloides esteroidales totales de 1 mg/mL; 2,5 mg/mL y 5 mg/mL disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO)

Reactivación de las cepas

Los microorganismos fueron reactivados en caldo Müller-Hinton (CMH) para bacterias y Caldo Sabouraud Glucosado (CSG) para levaduras y se incubaron durante 18 horas a 37 °C.

Luego se tomó una asada de cada microorganismo y se ajustó con solución salina fisiológica al patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 (10^8 UFC/mL)

Sembrado

Se colocó en placas Petri 20 mL de Agar Müeller-Hinton para bacterias y, 20 mL de Agar Sabouraud Dextrosa para levadura. Solidificado cada agar, se sembraron los microorganismos en la superficie de este, y se hisopó uniformemente,

girando cada placa 30 grados por 10 veces aproximadamente. Las placas recién sembradas fueron colocadas en una estufa a 37 °C de temperatura durante 10 minutos.

Aplicación de los discos

Sobre las placas sembradas, se colocaron en la superficie del agar inoculado los discos de papel de filtro (6 mm de diámetro) previamente impregnados con 0,1 mL de las concentraciones de glicoalcaloides esteroidales totales (1 mg/mL, 2,5 mg/mL y 5 mg/mL) y del control negativo dimetilsulfóxido (DMSO). También se colocaron los discos estándares de antibiótico de referencia para cada microorganismo en particular como controles positivos (Tabla I).

Tabla I. Controles positivos de susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos

Microorganismo	Antimicrobianos (controles positivos)
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Ciprofloxacino 5 mg
Escherichia coli ATCC 25922	Ciprofloxacino 5 mg
Candida albicans ATCC 10231	Fluconazol 25 µg

Posteriormente, los medios de cultivos inoculados se incubaron a 37 °C durante 24 horas, realizándose las lecturas de los halos de inhibición a las 24 horas para bacterias y 48 horas para hongos. Todos los ensayos se realizaron por ocho veces. El diámetro de la zona de inhibición producto de la acción antimicrobiana de los glicoalcaloides esteroidales totales fueron expresados en milímetros (mm). La prueba se consideró negativa cuando presentó crecimiento microbiano alrededor del disco al igual que los controles negativos.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria: método de macro dilución en agar (Olórtegui, 2009).

Preparación de la muestra

Se preparó una solución inicial de 50 mg % de glicoalcaloides esteroidales totales de *S. habrochaites* disueltas en solución fisiológica (cloruro de sodio 0,9%) estéril con 1 mL de ácido acético 0,1N para ayudar a la solubilidad; a partir de esta solución se preparó por triplicado una batería de tubos de ensayo con soluciones al 10µg/mL; 25 µg/mL; 50 µg/mL; 75 µg/mL; 100 µg/mL y 250 µg/mL, completando a 10 mL con solución fisiológica estéril como solvente. Se homogenizó las diluciones con la ayuda de un vortex.

Preparación de la suspensión del inóculo

Los microorganismos fueron reactivados en caldo Müeller-Hinton para bacterias y Caldo Sabouraud Glucosado para levadura y se incubaron durante 18 horas a 37 °C.

Luego se tomó una asada de cada microorganismo y se ajustó con solución salina fisiológica al patrón de Turbidez de Mac Farland N° 0,5 (10^8 UFC/mL).

Enfrentamiento con los microorganismos

Las diferentes concentraciones de los glicoalcaloides esteroidales totales preparados anteriormente fueron enfrentadas por 24 horas con 1 mL de la suspensión del inóculo de cada microorganismo ajustado a la escala de Mac Farland N° 0,5 ($1x10^8$ UFC/mL).

Transcurrido el tiempo se colocó 1 mL

de la suspensión enfrentada sobre una placa Petri y se agregó el agar Müeller-Hinton para bacterias y agar Sabouraud Glucosado para levadura.

Las placas Petri que contenían agar Müeller-Hinton para bacterias se incubaron de manera invertida a 37 °C por 24 horas.

Las placas Petri que contenían agar Sabouraud Glucosado para levadura se incubaron de manera invertida a 22,5 °C +/- 0,5 °C por 48 horas.

Para descartar la interacción del solvente, se trabajó un control con ácido acético con las condiciones anteriormente descritas.

Control negativo: 1 mL de la suspensión del inóculo de cada microorganismo ajustado a la escala de Mac Farland N° 0,5 ($1x10^8$ UFC/mL) se agregó al agar Müeller-Hinton para bacterias y agar Sabouraud Glucosado para levadura se incubaron de manera invertida a 37 °C por 24 horas para bacterias y 48 horas a 22,5°C +/- 0,5°C para levadura.

Se procedió a realizar las lecturas de las placas trascurrida las 24 horas de incubación para las bacterias y las 48 horas de incubación para la levadura. Todos los ensayos se realizaron por ocho veces.

Análisis estadístico

Para la cuantificación de glicoalcaloides esteroidales totales, se utilizó la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación.

Los resultados de los ensayos antimicrobianos *in vitro* fueron procesados y analizados mediante el programa SPSS versión 20, aplicando análisis ANOVA.

Resultados y discusión

Para la extracción de los glicoalcaloides esteroidales totales (GAET) se realizó una extracción sólido-líquido con una mezcla extractora de etanol y cloroformo (2:1), seguido de la adición de ácido acético al 2%. Los GAET son solubles en soluciones acuosas ácidas y disolventes orgánicos polares, incluyendo acetonitrilo, metanol, etanol, y propanol (Wang & Beford, 1972). En la mayoría de los casos, la extracción de glicoalcaloides estroidales (GAE) de materiales vegetales se lleva a cabo con ácido acético diluido (1-5%), que no es tóxico y barato. Las combinaciones de disolventes diferentes han sido preparadas para lograr la extracción efectiva del anfifílico glicoalcaloide. Después de la extracción con ácido acético al 2%, los GAE se encuentran en forma libre como sal juntos con otras impurezas más (pigmentos, lípidos entre otros). Para desengrasar y despigmentar el extracto acuoso ácido se añade éter de petróleo. Este desengrase tiene como fin eliminar algunos lípidos y pigmentos propios de las plantas, los que pueden interferir en la etapa de purificación del proceso. Siendo los GAE insolubles en éter de petróleo. Posteriormente se adiciona hidróxido de amonio a la fase acuosa ácida hasta pH 9, donde los alcaloides son floculados, debido a que estos son insolubles en agua, obteniéndose de esta manera los GAET. Luego se realizó una identificación cualitativa con los reactivos de Dragendorff, Wagner, Hager y Mayer para determinar la porción alcaloidea, seguida de la reacción de Liebermann-Burchard para determinar el anillo esteroidal (Martín, 2009; Distl *et al.*, 2009; Martínez, 2009).

En la tabla N° 1, se observa el porcentaje de GAET expresados como solanina de las hojas de *S. habrochaites*, calculado a partir de la curva de calibración de la solanina, donde el promedio de las 6 muestras analizadas es igual a 1,1212%, con una desviación estándar de ±0,0046 y un coeficiente de

Tabla 1. Concentración de glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de ***Solanum habrochaites*** S. Knapp & D.M. Spooner. expresados como solanina.

Nº de repeticiones	glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina (g/100g de hoja seca)
1	1,1224
2	1,1223
3	1,1236
4	1,1112
5	1,1224
6	1,1255
Promedio	1,1212
D.S.	0,0046
C.V. (%)	0,4103
Límites de confianza	1,1212±0,004

Donde:

D. S.: Desviación estándar.

C.V. (%): Coeficiente de variación.

*Criterio de aceptación del C.V. < 1

variación de 0,4103%, teniendo estos valores una dispersión mínima entre sí, lo cual evidencia la precisión de estos valores. En otras investigaciones, realizadas a plantas del mismo género *Solanum*, se encontró que, las concentraciones de GAET oscilan entre 0,1 y 4,4 % (Barbosa-Filho, *et al.*, 1991; Weiler, 1981; Mann, 1978; Bradley, 1978; Schreiber, 1973) hallazgos que coinciden con los del presente trabajo.

Asimismo, Martín. (2011), manifiesta que estas variaciones, se pueden dar de acuerdo a la procedencia de estas especies, estado vegetativo, mes de colecta, así como también, si estas son cultivadas o silvestres, teniendo estas últimas la mayor concentración de estos compuestos alcaloideos. Esto se debe a que las plantas silvestres se encuentran expuestas a ambientes, muchas veces extremos, con altas o bajas temperaturas, además de estar expuestas a más agentes patógenos; lo que origina que estas especies desarrollen más cantidad de estos metabolitos secundarios como mecanismo de defensa frente a diversos estresores del ambiente donde se desarrollan. Cabe también recalcar, que como mecanismo adaptativo estas especies silvestres generan mayor concentración de glicoalcaloides esteroidales, debido a factores genéticos (Hellenäs, 1995). Asimismo, Martínez (2009) menciona que los GAET se encuentran mayoritariamente en hojas y tallos, y en menor cantidad en los tubérculos.

Para determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de la especie en estudio, se empleó el método de difusión en agar con discos impregnados, basado en el trabajo de Kirby-Bauer (Kumar *et al.,* 2009; Chakraborty *et al.,* 1999) el cual es uno de los métodos que el Comité Nacional de Estándares para

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de los glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *Solanum habrochaites* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Candida albicans* ATCC 10231.

Microorganismo	Halo de inhibición (mm) discos de 6 mm de diámetro *						CMI (µg/mL)
	Concentración de glicoalcaloides esteroidales totales (mg/mL)			Compuesto de referencia		Blanco DMSO	
	1	2,5	5	Ciprofloxacino 5µg	Fluconazol 25 µg		
Staphylococcus aureus ATCC 25923	21,12±0,78	25,38±0,69	29,12±0,64	28,75±0,46		0	50
Escherichia coli ATCC 25922	19,38±0,69	21,12±0,78	26,25±0,43	31±0,53		0	25
Candida albicans ATCC 10231	26,5±0,69	29±0,5	31,25±0,66		25±0,92	0	10

* Promedio y desviación estándar de los halos de inhibición de 8 repeticiones

$p < 0,05$ comparado con el grupo control positivo (test de ANOVA)

Laboratorios Clínicos de los Estados unidos de Norteamérica (NCCLS) recomienda para determinar la sensibilidad antimicrobiana. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de seis mm de diámetro impregnado con una cantidad conocida de la sustancia.

En la tabla 2, se observan también los valores de los halos de inhibición de los glicoalcaloides esteroidales totales de las hojas de *S. habrochaites* frente a los microorganismos ensayados, siendo estos directamente proporcionales a las concentraciones, con diferencias estadísticamente significativas $p<0,05$. En el mismo sentido, los compuestos de referencia (Ciprofloxacino 5 µg y fluconazol 25 µg) presentan halos de inhibición que, según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio de los Estados Unidos de Norteamérica (CLSI, 2009), son catalogados como sensibles para estos compuestos frente a estos microorganismos; mientras que, el blanco (DMSO) no presenta halos de inhibición, lo que indica la inocuidad del solvente frente a las cepas ensayadas. Cabe recalcar, que a la concentración de 5 mg/mL, los compuestos ensayados denotan mayor tamaño promedio de halo de inhibición (29,12±0,64 mm) frente a *S. aureus*, en contraposición del ciprofloxacino 5 µg que presentó un halo de inhibición de 28,75±0,46 mm. Asimismo, los halos de inhibición de todas las concentraciones ensayadas frente a *C. albicans* (26,5±0,69, 28,5±0,5 y 31,25±0,66 mm) son mayores a los de fluconazol 25 µg (25±0,92 mm). No obstante, los guarismos pertenecientes a los halos de inhibición de todas las concentraciones ensayadas frente a *E. coli* (19,38±0,69; 21,12±0,78 y 26,25±0,43 mm) fueron menores a ciprofloxacino 5 µg. Asimismo, las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los GAET fueron de 25 µg/mL para *S. aureus,* 50 µg/mL para *E. coli* y 10 µg/mL para *C. albicans.* En este sentido, Mitchel *et al.* (2011) encontraron que la tomatidina, un glicoalcaloide esteroidal es un potente inhibidor de *S. aureus*. Del mismo modo,

la solanina, solasodina, y β-solamarina inhiben el crecimiento de *E. coli,* y *S. aureus* (Parma *et al.,* 2009). Otros glicoalcaloides como, la solamargina, solasonina inhiben el crecimiento de *C. albicans, C. parapsilosis, T. rubrum, T. mentagrophytes, M. canis, M. gypseum.* En este mismo contexto, Das Chagas *et al.* (2011) encontraron CMI de los alcaloides solamargina y solasonina de 125 μg/mL y 62,5 μg/mL respectivamente contra *C. albicans*. Así también, Kusano *et al.* (1987), hallaron que la solacongestidina presentaba la mayor actividad contra hongos como *C. albicans* con CMI de 0,8 μg/mL.

De acuerdo con lo descrito por Avellaneda *et al.* (2005), una cepa bacteriana es muy sensible cuando la sustancia evaluada presenta una CMI inferior a 12,5 mg/mL, de mediana sensibilidad entre 1; 2,5 y 50 mg/mL y de baja sensibilidad cuando la CMI está entre 50 a 100 mg/mL. En el presente trabajo, las CMI se encuentran por debajo del valor de 12,5 mg/mL; lo que indica, que la cepas estudiadas son sensibles a los GAET extraídos de las hojas de *S. habrochaites.* Los posibles mecanismos que mencionan muchos autores (Chakraborty & Branert, 1999; Chataing, 2004; Keuken *et al.*, 1995) se debe a que estos glicoalcaloides esteroidales poseen actividades anticolinesterásicas y citotóxicas, que provocan la lisis de la membrana celular de los microorganismos. Asimismo, estos GAET representan una opción atractiva para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que contrapesen los efectos de las resistencias antimicrobianas.

Conclusión

Las hojas de la especie de *Solanum habrochaites* S. Knapp & D. M. Spooner presentan glicoalcaloides esteroidales totales expresados como solanina en una concentración de 1,1212 ±0,0046 g/100 g de hojas secas. Asimismo, estos compuestos tienen actividad antimicrobiana frente *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Candida albicans* a todas las concentraciones ensayadas (1; 2,5 y 5 mg/mL), siendo más efectivos contra *C. albicans* cuyas medidas de halos de inhibición superaron al fluconazol 25 μg, con concetraciones mínimas inhibitorias de 50, 25 y 10 μg/mL para *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Candida albicans* respectivamente.

Literatura citada

Avellaneda, S.; N. Rojas; A. Cuéllar; R. Fonseca. 2005. Actividad antibacteriana de *Diphysa minutifolia* Rose. Rev Cubana de Plant Med. 10(2): 42-47.

Barbosa-Filho, J. M.; M. F. Agra; R. Oliveira; M. Paulo; G. Trolin; E. Cunha; J. Ataide & J. Bhattacharyya.1991. Chemical and Pharmacological Investigation of *Solanum* species of Brazil- a search for solasodine and other potencially useful therapeutics agents. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 86(2): 189-191.

Bradley, V.; D. J. Collins; P. G. Crabbe; F. W. Eastwood; M. C. Irvine; J. M. Swan & D. E. Symon. 1978. A survey of Australian *Solanum* plants for potentially useful sources of solasodine. Australian Journal of Botany 26: 723-754.

Chakraborty, A. & H. Branert. 1999. Antibacterial steroid alkaloids from stem bark of *Hallarrhena pubescens.* Journal of Ethn –Pharmacology. 68: 339-344.

Cham, B. & H. Maeres. 1987. Glycoalkaloids from *Solanum sodomaceum* are effective in treatem of skin cancers in man. Cancer Letters. 36 (2): 111-118.

Chataing, N. 2004. Compuestos naturales purificados de plantas venezolanas. Tesis Doctoral. Facultad de Postgrado en Ciencias Aplicadas Merida- Venezuela. p.: 69-72

CLSI. 2009. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; nineteenth informational supplement, CLSI document M100-S19. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute. p.: 1-158.

Das Chagas, F.; D. Esdras; E. Silveira; O. Pessoa; R. Braz-Filho; F. Silva; P. Theodoro & L. Espindola. 2011. Glicoalcaloides antifúngicos, flavonoides e

outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. Quím. Nova. 34 (2):284-288

Distl, M.; M. Sibum & M. Wink. 2009. Combination of On-Line Solid-Phase Extraction with LCMS for the determination of potentially hazardous glycoalkaloids in potato products. Potato Research. 52 (1): 39-56

Fattorusso, E. & O. Taglialatela-Scafati. 2007. Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology. Wyley-VCH Verlag GmbH & KGaA, Weinheim. Germany.

Foolad, MR.; HL. Merk & H. Ashrafi. 2008. Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. Critical Review of Plant Science 27: 75- 107.

Friedman, M. 2006. Potato Glycoalkaloids and Metabolites: Roles in the Plant and in the Diet. J. Agric. Food Chem. 54 (23): 8655–8681.

Grandillo, S; R. Chetelat; S. Knapp; D. Spooner; I. Peralta; M. Cammareri; O. Pérez; P. Termolino; P. Tripodi; M. L. Chiusano; M. R. Ercolano; L. Frusciante; L. Monti & D. Pignone. 2011. *Solanum* sect. *Lycopersicon* Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Edited by Kole C. Berlin Heidelberg: Springer. 129-215

Hall, C.; T. Hobby & M. Cipollini. 2006. Efficacy and Mechanisms of α-Solasonine-and α-Solamargine-Induced Cytolysis on Two Strains of *Trypanosoma cruzi*. Journal of Chemical Ecology 32 (11): 2405-2416.

Hellenäs, K.; H. Branzell; H. Johnsson & P. Slanina.1995. High levels of glycoalkaloids in the established Swedish potato variety Magnum Bonum. Journal of the Science of Food Agriculture. 68(2): 249-255.

Hermida, C. & A. Sifres. 2011. Análisis de la variabilidad genética de *Solanum habrochaites* en su lugar de origen, un recurso infrautilizado para la mejora del tomate. Tesis. Universidad Politécnica de Valencia. España.

Keuken, E. A.; T. De Vrije; C. Van Den Boom; P. De Waard; H. H. Plasman; F. Thiel; V. Chupin; W. M. Jongen & B. Krjiff. 1995. Molecular bases of glycoalkaloids induced membrane disruption. Biochim Biophys Acta. 1240: 216–228.

Knapp, S. 2002. *Solanum* section Geminata. Flora Neotropica 84: 1-404. 12 (4): 179-282

Korpan, Y. I; E. A. Nazarenko; I. V. Skryshevskava; C. Martelet; N. Jaffrezic-Renault & A. V. El'skava. 2004. Potato glycoalkaloids: true safety or false sense of security? Trends Biotechnol 22:147–151

Kumar, P.; B. Sharma & N, Bakshi. 2009. Biological activity of alkaloids from *Solanum dulcamara* L. Natural Product Research. 23(8);719-723.

Kuo, K. W.; S. H. Hsu; Y. P. Li; W. L. Lin; L. F. Liu; L. C. Chang; C. C. Lin; Cn. Lin & H. M. Sheu. 2000. Anticancer activity evaluation of the *Solanum* glycoalkaloid solamargine. Triggering apoptosis in human hepatoma cells. Biochem Pharmacol. 60 (12):1865–1873.

Kusano, G.; A. Takahashi; S. Nozoe; Y. Sonosa & Y. Sato.1987. *Solanum* alkaloids as inhibitors of enzymatic ceonversion of dihydrolanosterol into colesterol. Chem. Pharm. Bull. 35(10). 4321-4323.

Leite, G.; M. Picanco; R. Guedes & J. Zanuncio. 2001. Role of plant age in the resistance of *Lycopersicon hirsutum F. glabratum* to the tomato leafminer Tuta absoluta (Lepidoptera:Gelechiidae). Scientia horticulturae 89: 103-113.

Mann, J. D. 1978. Production of solasodine for the pharmaceutical industry. Advances in Agronomy 30: 207-245.

Martín, M. 2009. Determinación de glicoalcaloides: α-solanina y α-chaconina en patata mediante cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo.

Martínez, A. 2009. Alcaloides esteroidales de las Solanaceas. [acceso 24 de mayo de 2014]. Disponible en: http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides%20 esteroidales.pdf

Mitchell, G.; M, Gatusso; G, Grondin; E, Marsault; K, Bouarab & F, Malouin. 2011. Tomatidine Inhibits Replication of *Staphylococcus aureus* Small-Colony Variants in Cystic Fibrosis Airway Epithelial Cells. Antimicrob Agents Chemother. 55(5); 1937–1945.

Mwonjoria, J.; H. Kariuki & F. Waweru. 2011. The antinociceptive antipyretic effects of *Solanum incanum* (Linneaus) in animal models. International Journal of Phytopharmacology. 2(1): 22-26.

Olórtegui, J. S. & M. C. Brañez. 2009. Evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana de glicoalcaloides esteroidales de las hojas de *Solanum albinum* Dunal y *Solanum oblongifolium* Dunal. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

Pandurangan, A.; R. Khosa & S. Hemalatha. 2010. Antinociceptive activity of steroid alkaloids isolated from *Solanum trilobatum* Linn. J Asian Nat Prod

Res. 12(8):691-695

Parma, K.; S. Bindu & B. Nidhi. 2009. Biological activity of alkaloids from *Solanum dulcamara* L. Nat. Prod. Research. 23 (8): 719-723

Paterson, BD; L. Mutton; RE. Paull & VQ. Nguyen. 1987. Tomato pollen development: stages sensitive to chilling and a natural environment for the selection of resistant genotypes. Plant Cell and Environment 10: (5) 363-368

Peña, W. 2010. Evaluación del contenido de glicoalcaloides en el pelado, cocción y fritura de variedades de papa nativa. Tesis. Escuela Politécnica Nacional del Ecuador. Ecuador.

Pinto, F.; E. Uchoa; E. Silveira; O. Pessoa; R. Braz-Filho; F. Silva; P. Theodoro & L. Espíndola. 2011. Glicoalcaloides antifúngicos, flavonoides e outros constituintes químicos de *Solanum asperum.* Quím. Nova. 34(2).

Sacsaquispe, R. E. & J. Velásquez. 2002. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por Método de Disco Difusión. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. Lima.

Schreiber, K. 1973. Synthesis and biogenesis of steroidal *Solanum* alkaloids. Biochemical Society Transactions 2: 1-25.

Soto, M. R. 2014. Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia solanaceae. Rev Cubana Plant Med. Vol. 19(4).

Tingey, W. 1984. Glycoalkaloids as pest resistance factors. Am. Potato J. 61(3): 157-167.

Vronen, P. 2003. Potato glycoalkaloids as starting material for the synthesis of steroid hormones. [En Internet] 2003 [acceso 24 de mayo de 2012]. Disponible en: http://edepot.wur.nl/121415

Wang, H.; L. Mingyue; H. Xinxi; L. Mei & X. Xingyao. 2013. Electrochemical Determination of Glycoalkaloids Using a Carbon Nanotubes-Phenylboronic Acid Modified Glassy Carbon Electrode. Sensors. 13(12):16234-16244.

Wang, S. 2007. Beford C and Thompson N. Determination of glycoalkaloids in potatoes (*S. tuberosum*) with a bisolvent extraction method. Am Potato J. 1972: (49): 302-308.

Weiler, E. W.; H. kruger & M. Zenk. 1980. Radioimmunoassay for the determination of the steroidal alkaloid solasodine and related compounds in living plants and herbarium specimens. Planta Medica 39: 112-124.

Weese, T. L. & L. Bohs. 2007. A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). Systematic Botany. 32(2):445–463.

Yang, S. A.; S. H. Paek; N. Kozuhue; K. R. Lee & J. A. Kim. 2006. Alpha-chaconine, a potato glycoalkaloid, induces apoptosis of HT-29 human colon cancer cells through caspase-3 activation and inhibition of ERK 1/2 phosphorylation, Food and Chemical Toxicology. Food Chem Toxicol. 44(6):839-46.

ANEXO



Fig.1-2. Especie de *Solanum habrochaites* S. Knapp & DM Spooner (Solanaceae)